



Gélose MSRV (ISO 6579)

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose de Rappaport-Vassiliadis semi-solide modifiée (MSRV) est un milieu sélectif, historiquement utilisé pour l'isolement des *Salmonella* dans les produits de chocolaterie et les autres produits alimentaires. Elle est également très utilisée dans le domaine de la santé animale : chez les mammifères, les oiseaux et dans l'environnement des productions animales.

HISTORIQUE

Développée par De Smedt *et al*, la composition du milieu dérive de celle du bouillon de Rappaport-Vassiliadis, rendu semi-solide par adjonction d'une faible quantité d'agar. Sa sélectivité est réajustée par abaissement du taux de chlorure de magnésium présent dans ce bouillon et ajout de novobiocine à hauteur de 10 mg/L.

La gélose MSRV (ISO 6579) entre dans le protocole de recherche des salmonelles dans le cadre des prélèvements réalisés dans l'environnement (matières fécales animales et échantillons environnementaux) des filières de production animale (élevages, couvoirs), ainsi que dans celui de la mise en évidence des salmonelles chez les oiseaux (œufs à couver, prélèvements d'organes) et chez les mammifères.

PRINCIPES

- L'efficacité bactériologique est fondée sur la capacité des salmonelles à migrer de façon sélective dans le milieu.
- Les bactéries contaminantes sont inhibées par la forte concentration en chlorure de magnésium, ainsi que par la présence de vert malachite.
- La Novobiocine permet d'inhiber la plupart des microorganismes à Gram positif et d'éviter le développement des *Proteus*.
- Les *Salmonella* produisent un halo opaque, témoin de la culture.
- Le milieu estensemencé directement à partir d'un milieu de pré-enrichissement (Eau peptonée tamponnée, en simple ou double concentration), préalablement incubé à $(37 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ pendant (18 ± 2) heures. Si l'échantillon à tester est suspecté de contenir un élément inhibiteur de la croissance bactérienne ou lorsqu'on opère un contrôle de désinfection/nettoyage, il pourra être utile d'ajouter au milieu de pré-enrichissement des neutralisants de désinfectants.
- Le milieu ne convient pas pour les salmonelles immobiles (*Salmonella* Gallinarum et Pullorum). Si la présence de telles salmonelles est suspectée, les cultures obtenues sur le milieu de pré-enrichissement doivent être repiquées sur les milieux appropriés, en suivant les procédures adaptées.

PREPARATION

- Mettre en suspension 31,7 g de milieu déshydraté (BK191) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution. Une liquéfaction partielle de l'agar entraînera inévitablement une altération significative de la consistance du gel du milieu solidifié, après ébullition et refroidissement.
- Ne pas autoclaver.
- Si la présentation prête-à-liquéfier (BM127) est utilisée, faire fondre la gélose pendant le minimum de temps nécessaire à sa reliqufaction totale.
- Ne pas répéter cette opération plus d'une fois.

MODE D'EMPLOI

- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47°C.
- Couler en boîtes de Petri stériles.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Ne pas sécher les boîtes ainsi préparées.
- Ensemencer trois gouttes (environ 0,1 mL) de la culture provenant d'un milieu de pré-enrichissement, au centre d'une boîte de milieu.
- Incuber à $(41,5 \pm 1,0)^{\circ}\text{C}$, pendant (24 ± 3) heures, sans retourner les boîtes. Au constat de l'absence de migration en 24 heures, l'incubation sera prolongée de (24 ± 3) heures supplémentaires.
- La température d'incubation ne devra jamais être supérieure à 43°C.

LECTURE

Le développement d'un halo opaque blanchâtre centré sur le point d'ensemencement indique présomptivement la présence de *Salmonella*. Des subcultures peuvent être réalisées en prélevant une fraction de culture sur le bord externe du halo pour en confirmer la pureté et effectuer les tests biochimiques et sérologiques complémentaires.

FORMULE-TYPE du milieu complet

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Digestat enzymatique de tissus animaux et végétaux	4,59 g
- Hydrolysate acide de caséine	4,59 g
- Chlorure de sodium	7,34 g
- Phosphate monopotassique	1,47 g
- Chlorure de magnésium anhydre	10,93 g
- Vert malachite (oxalate)	37,0 mg
- Novobiocine	10,0 mg
- Agar agar bactériologique	2,70 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 5,2 (5,1-5,4).

CONTRÔLE QUALITE

- Milieu déshydraté : poudre bleue, fluide et homogène.
- Milieu préparé (complet) : gélose bleue, semi-solide.
- Réponse culturale typique après 24 heures d'incubation à $(41,5 \pm 1,0)^{\circ}\text{C}$:

Microorganismes	Caractéristiques culturales
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC® 14028	Culture blanchâtre, opaque, de diamètre $\geq 30\text{mm}$, centrée au point d'inoculation
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028 + <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 + <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Culture blanchâtre, opaque, de diamètre $\geq 30\text{mm}$, centrée au point d'inoculation
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Migration culturale inhibée
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Migration culturale inhibée

STOCKAGE / CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-25°C.

- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
- Milieu préparé en boîtes : 15 jours à 2-8°C, à l'abri de la lumière (à titre indicatif).

Milieu prêt-à-liquéfier en flacons :

- Stocker entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

PRESENTATION

Code

Milieu déshydraté :

- Flacon de 500 g

BK191HA

Milieu prêt-à-liquéfier en flacons :

- Pack de 10 flacons de 200 mL

BM12708

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

De SMEDT, J.M., BOLDERDIJK, R.F., RAPPOLD, H. and LAUTENSCHLAEGER, D.. 1986. Rapid *Salmonella* detection in foods by motility enrichment on a Modified Semi-Solid Rappaport-Vassiliadis medium. Journal of Food Protection, **49** : 510-514.

De SMEDT, J.M. and BOLDERDIJK, R.F.. 1987. Dynamics of *Salmonella* isolation with Modified Semi-Solid Rappaport-Vassiliadis medium. Journal of Food Protection, **50** : 658-661.

BOLDERDIJK, R.F. and MILAS, J.E.. 1996. *Salmonella* detection in dried milk products by motility enrichment on modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis medium: collaborative study. Journal of AOAC International, **79** : 441-450.

VOOGT, N., RAES, M., WANNET, W.J.B., HENKEN, A.M. and van de GIESSEN, A.W.. 2001. Comparison of selective enrichment media for the detection of *Salmonella* in poultry faeces. Letters in Applied Microbiology, **32** : 89-92.

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

NF EN ISO/CEI 17025 (X 50-061). Septembre 2005 (4^e tirage de Décembre 2006). Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais.

NF U 47-100. Juillet 2007. Méthodes d'analyse en santé animale. Recherche par l'isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles dans l'environnement des productions animales.

NF U 47-101. Novembre 2007. Méthodes d'analyse en santé animale. Isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles chez les oiseaux.

NF U 47-102. Janvier 2008. Méthodes d'analyse en santé animale. Isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles chez les mammifères.

NF EN ISO 6579/A1 (V 08-013/A1). Janvier 2008. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp.. Amendement 1 Annexe D : recherche de *Salmonella* spp. dans les matières fécales des animaux et dans des échantillons au stade de la production primaire.

SUPPORT PHOTO

Références : BK191HA, BM12708

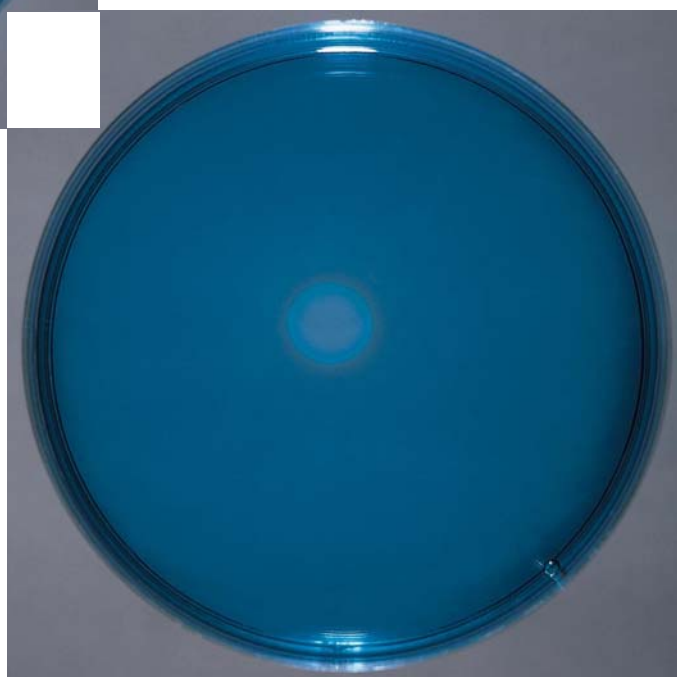
Utilisation : Détection des *Salmonelles* mobiles



A gauche :

Salmonella Typhimurium (mobile)

Réaction positive



A droite :

Enterobacteriaceae immobile

Réaction négative

Gélose MSRV

Réf : **BM12708**

Incubation : 24 heures / 41,5°C

Caractéristiques : *Salmonella* : culture blanchâtre, un halo opaque centré au point d'inoculation;

Autres *Enterobacteriaceae* (si croissance) : pas de halo opaque; une croissance centrée uniquement sur le point d'inoculation.

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Les informations et les spécifications contenues dans cette fiche technique ont été établies à la date du 2009-02-10.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.
Code document : BK191/F/2007-03 : 6.